

LA CURACIÓN DEL SIDA

Sofía Elena Tesolato

Dpto. de Farmacología, Facultad de farmacia, Universidad Complutense de Madrid

1. Introducción y antecedentes

El SIDA es una enfermedad infecciosa causada por un retrovirus llamado virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y caracterizada por la disminución en el infectado de los linfocitos T CD4+ (Th o colaboradores). Como consecuencia de esto se produce una disminución significativa y progresiva en la respuesta inmunitaria del paciente, lo que lo expone a una o más infecciones o neoplasias oportunistas que generalmente son las que le causan la muerte. Las tres vías de transmisión reconocidas de la enfermedad entre humanos son la sanguínea, la sexual y la vertical. El descubrimiento del SIDA data del año 1981, y fue en el año 1983 cuando logró aislarse por primera vez el retrovirus a partir de los ganglios linfáticos de un paciente infectado. Actualmente se trata de una enfermedad de distribución mundial, y su largo período de incubación hace que muchos individuos infectados no conozcan su situación (1 de cada 7 personas en UE/EEE).

El VIH como agente causante del SIDA

Gran capacidad mutagénica, **alta diversidad genética**:

2 tipos de VIH:

- ❖ **VIH-1** (más virulento): Europa, América, Asia y Oceanía.
- ❖ **VIH-2**: África central y occidental.

Varios grupos filogenéticos de VIH-1 y VIH-2.

Para que la retrotranscripción sea completa y efectiva el linfocito Th debe estar activado (↑ niveles de dNTPs celulares).

La principal barrera actual frente a la total erradicación del VIH del organismo son los **reservorios celulares**.

Principal reservorio: **linfocitos Th de memoria**:

- muy escasos (1 reservorio por cada 10⁶ LTh en reposo).
- se generan a partir de linfocitos Th activados que tras ser infectados, en vez de comenzar a producir nuevos virus, reversion a un estado de reposo en el cual la expresión del provirus está inhibida.

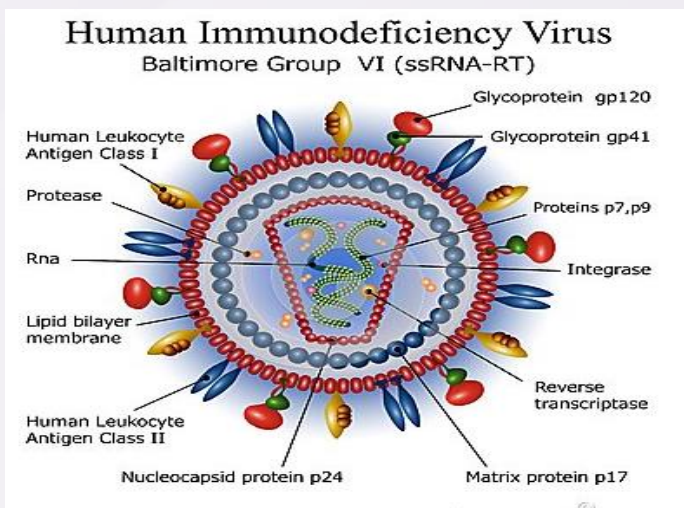


Fig 1. Estructura de un virión de VIH

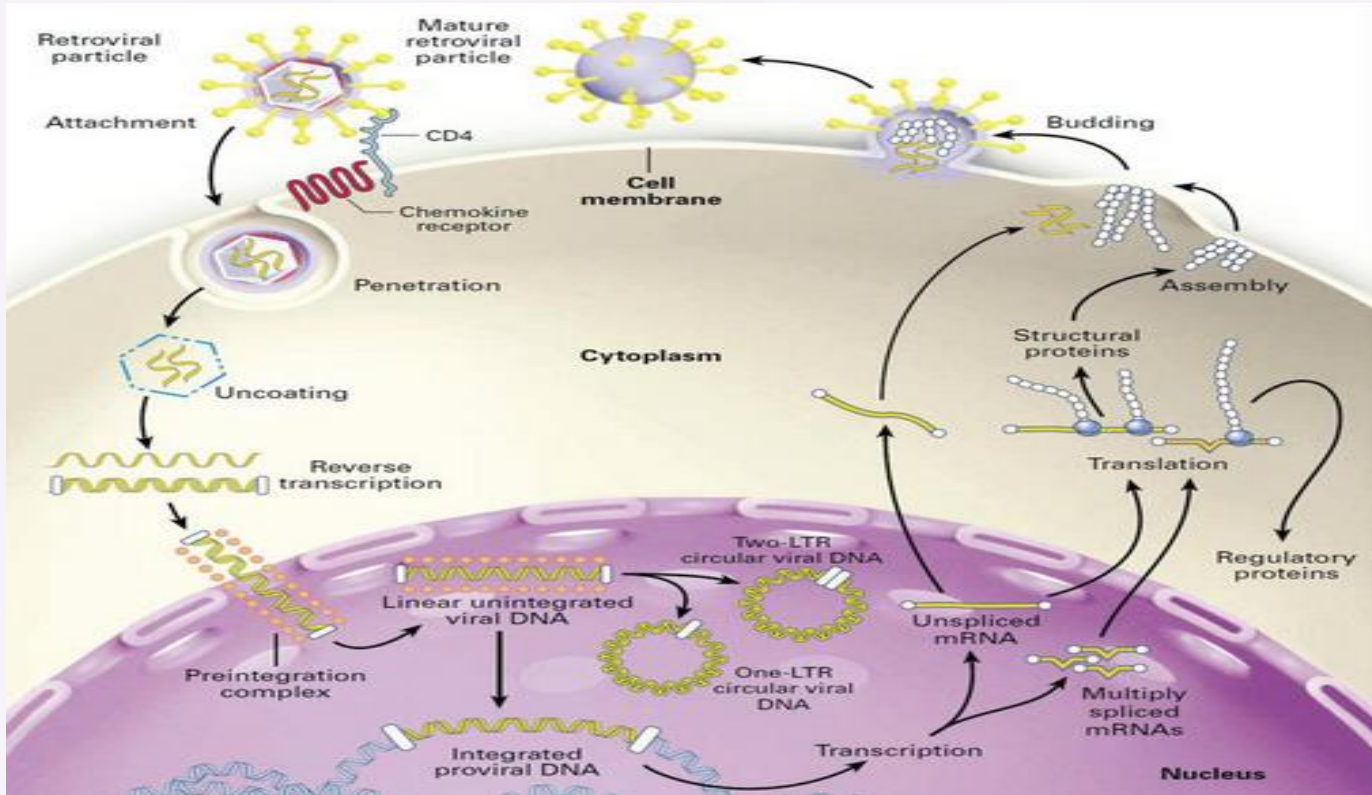


Fig 2. Ciclo celular del VIH

Aunque los **fármacos antirretrovirales** puedan llegar a controlar completamente la replicación del VIH, **no han demostrado poder actuar eficientemente frente a los reservorios ya establecidos** → necesidad de nuevas técnicas que combinadas o no con la TAR (terapia antirretroviral) permitan eliminar el VIH completamente.

Primeros casos de curación de la infección por VIH

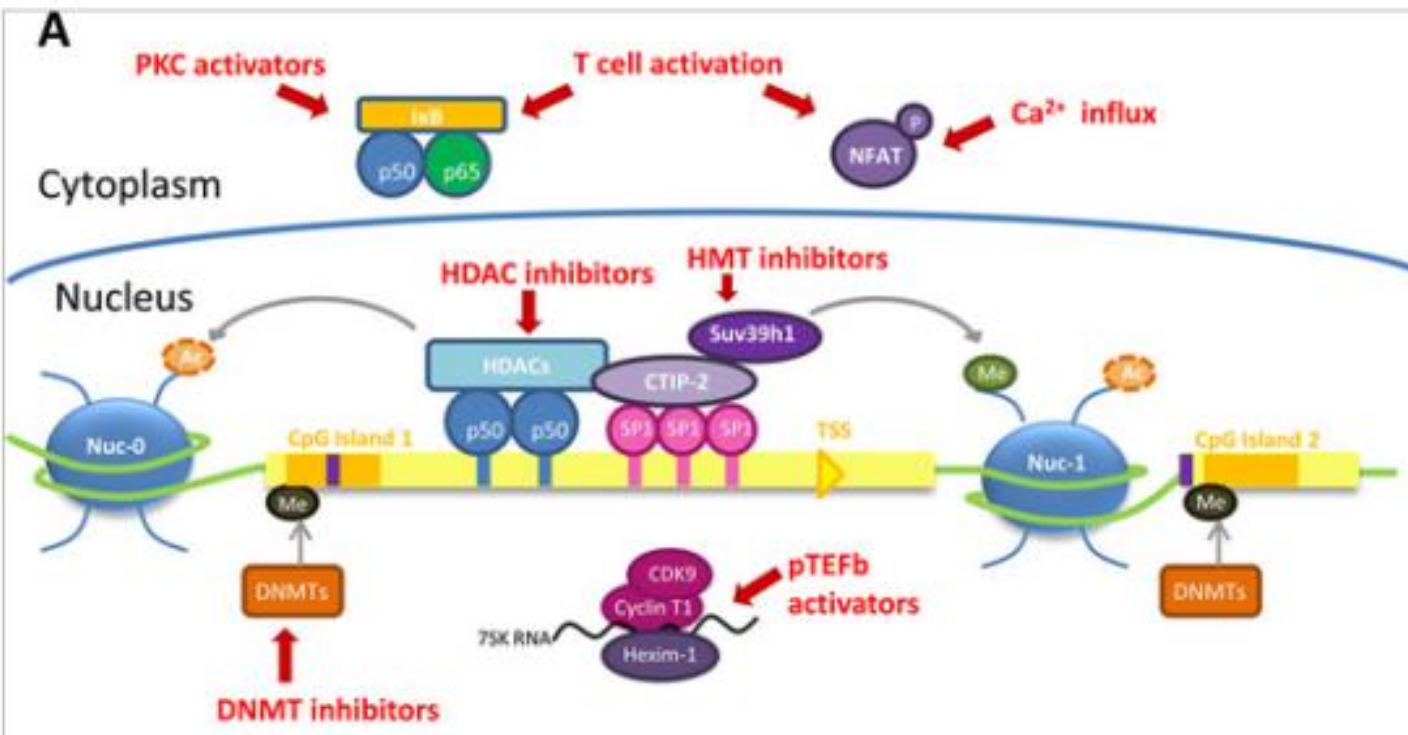
Único caso de curación funcional del VIH: “paciente de Berlín” (Timothy Brown, individuo con VIH que desarrolló una leucemia y recibió un trasplante de médula ósea de un individuo homocigoto para la depleción del correceptor CCR5).

2. Objetivo

Indagar sobre los principales **grupos de fármacos investigados como potenciales LRAs** y los compuestos que han obtenido **resultados más prometedores** como estrategia de curación de la infección por VIH.

4. Resultados y discusión

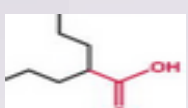
Fig.3. Mecanismos que regulan la expresión del VIH-1 en una célula infectada



1. Inhibidores de histonas desacetilasas (HDACis)

Inhibición HDAC 1,2 y 3 (clase I) → histonas acetiladas → interacción histona-DNA más débil → cromatina más laxa y accesible para la maquinaria de transcripción → ↑ expresión de los genes de la zona.

ÁCIDO VALPROICO/VPA (ácido alifático de cadena corta)



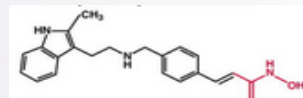
- Tratamiento epilepsia.
- Inhibidor HDAC clases I y II.
- *In vitro*: transcripción y producción virus en líneas celulares y LTh reservorio (de pacientes en TAR).
- **EC** (ensayos clínicos, en pacientes avirémicos en TAR):
 - 1) + intensificación TAR con enfurtivida, 500-750mg 2 veces/día, 3 meses → ↓ **reservorio en 3/4 pacientes**.

2) sin intensificar TAR, ≈ D y ≈ t → ↓ **reservorio sólo en 4/11 pacientes**.

3) ≈ D, 2 grupos aleatorizados (1°TAR+VPA → 2° sólo TAR, o viceversa) → **NO ↓ reservorio ni diferencias**.

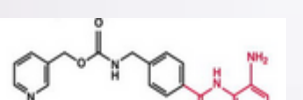
ACTUALMENTE EXCLUIDO DE ENSAYOS CLÍNICOS

PANOBINOSTAT (ácido hidroxiácido)



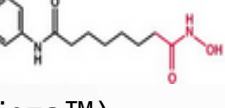
- Tratamiento mieloma reincidente o refractario (Farydak®).
- + Potente que VOR.
- *In vitro*: expresión en líneas celulares y cultivos 1°s LTh.
- **EC**:
 - 1) Hospital Universitario de Aarhus (Dinamarca), 15 pacientes, 3x 20mg/semana, 8 semanas → ↑ **CA usRNA**, ↑ **RNA plasmático** y ↓ **CA DNA total (transitoria)**, pero **NO ↓ clara del reservorio**.

ENTINOSTAT (benzamidas)



- Inhibe HDAC 1, 2, y 3.
- *In vitro*: expresión en líneas celulares y cultivos 1°s LTh.
- Aún no ha entrado en EC.

VORINOSTAT/VOR/SAHA (ácido hidroxiácido)

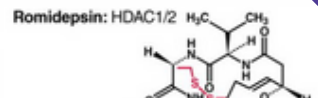


- Tratamiento linfoma cutáneo de células T (Zolinza™).
- + Selectivo HDAC clase I y + potente.
- *In vitro*: transcripción y producción virus en líneas celulares, cultivos 1°s LTh y LTh reservorio pacientes.
- **EC**:
 - 1) *ex vivo* (reservorios) → *in vivo* (pacientes +), 1 dosis de 400mg → ↑ **CA usRNA en 7/8 pacientes**.

2) 400mg/día, 14 días → ↑ **progresivo CA usRNA** ya desde primeras 8h, pero **variabilidad entre pacientes** (“modelo de activación retardada en múltiples etapas”).

En ninguno de los 2 EC hubo ↑ de RNA plasmático, ↓ reservorio o ↑ inmunidad adaptativa frente a VIH (¿no producción de viriones?)

ROMIDEPSINA (tetrapéptidos cíclicos y desipéptidos)



- Tratamiento linfoma refractario de células T (Istodax®).
- Compuesto natural producido por *Chromobacterium violaceum*, degradado por vía oral (vía parenteral).
- Selectivo por HDACs clase I, + potente que VOR.
- *In vitro*: transcripción y producción virus en modelos celulares de LTh y LTh reservorio pacientes.
- **EC**:
 - 1) 6 pacientes, infusión iv de 5mg/m2 4h/semana, 3 semanas → ↑ **continuo** (sin bajadas) **CA usRNA** y ↑ **RNA plasmático** (efecto a D muy inferiores a las usadas normalmente como antineoplásico). **No ↓ del reservorio**.

Inconveniente: posible ↓ respuesta CD8 (citotóxica)

2. Inhibidores de histonas metiltransferasas (HMTis)

Inhibición HMT (G9a, EZH2 y SUV39H1) → Residuo de lisina H3 desmetilado → Mayor expresión del VIH

BIX01294	Cateocina	DZNep
Inhibidor G9a 1° del grupo en demostrar revertir la latencia del VIH	Inhibidor SUV39H1	Inhibidor de varios tipos de HMT

Todos → producción virus en líneas celulares y cultivos 1°s LTh

BIX01294 y cateocina → también en LTh reservorio obtenidos de infectados en TAR

AÚN NO HAY ENSAYOS CLÍNICOS.

5. Conclusiones

Existen varios compuestos prometedores como LRAs, de los cuales algunos (ej. VPA, vorinostat) se han probado en ensayos clínicos. Sin embargo, la variabilidad de la capacidad de estos compuestos para revertir la latencia del VIH y su incapacidad de reducir el reservorio por sí solos implica que el futuro de la técnica “shock and kill” se encuentre en las combinaciones sinérgicas de fármacos o bien en la combinación de éstos con vacunas que favorezcan la eliminación inmunitaria de las células infectadas.

Estrategias de curación

Entre las más importantes encontramos:

1. **Vacuna terapéutica**: inducir respuesta inmunitaria específica más temprana frente al VIH que elimine el virus antes de que éste pueda establecer reservorios. 2 estrategias:
 - a) anticuerpos neutralizantes: no eficaces cuando ya se ha infectado la célula.
 - b) respuesta celular (LTCs): eficaces en el período en el cual la célula infectada aún no ha reversionado a estado de latencia.
2. **“Shock and kill” o “kick and kill”**: utilización de fármacos (“latency reversing agents” o LRAs) capaces de inducir la expresión de las formas latentes del VIH de los reservorios, para hacer que éstos puedan ser identificados como células infectadas y ser eliminados por la respuesta inmunitaria, o bien perezcan como consecuencia de los efectos citopáticos del propio virus.
 - Primera estrategia: activación de los reservorios → activación generalizada de LT → exceso de citoquinas (toxicidad) → necesidad de nuevas vías que activen la expresión del VIH sin activar el reservorio.

Evaluación del efecto de los LRAs

CULTIVOS CELULARES

■ **Células epiteliales transformadas** (screening)

■ **Líneas celulares** (mono o policlonales)

Estos cultivos no imitan el estado de quiescencia (G0) de los reservorios reales.

■ **Cultivos 1°s de LTh en reposo**

■ **LTh reservorio obtenidos de pacientes infectados en TAR** (*ex vivo*)

BIOMARCADORES DE LA INFECCIÓN

Biomarcador tradicional: **viremia** (copias ARN/mL plasma) → **indetectable con TAR**.

Biomarcadores asociados a célula (CA)

- **CA DNA** (integrado, no integrado)
- **CA RNA** → según splicing: msRNA, isRNA, usRNA (que contiene secuencia gag) **Proteína rev**

3. Metodología

Se han consultado artículos científicos recientes (máx. 10 años de antigüedad) relativos a investigaciones en la técnica “shock and kill” disponibles en las bases de datos del NHC (Pubmed y PMC) y la base de datos “Retrovirology.BioMed Central”, así como datos clínicos disponibles en la base de datos ClinicalTrials.gov.

3. Inhibidores de BET (BETis)

Reactivación celular → Descompactación cromatina y producción proteína viral *Tat* → Unión *Tat* al “elemento TAR” del ARNm vírico en transcripción → Liberación P-TEFb del complejo citoplasmático 7SK RNP y reclutamiento por Tat formando el SEC (complejo de súper elongación) → P-TEFb fosforila RNA Pol II y factores NELF y DISF → Elongación efectiva del ARNm del VIH

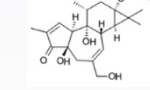
BET (bromodominios extraterminales)	Inhibidor de BET	Características	Ensayos <i>in vitro</i>
Presentan 2 bromodominios que reconocen residuos de Lys acetilados en H3 y H4	JQ1 (tienotriazolodiazepina)	Inicialmente diseñado para carcinoma de células escamosas. Antagonista bromodominios de los BET (BRD4).	Reversión latencia en líneas celulares y LTh reservorio pacientes en TAR (producción de virus en 1 de 3 pacientes).
BRD4 (con PID) → secuestro PTEF-b (Tat-dependiente)	I-BET, I-BET151 y MS417 (estructura parecida a JQ1)		Reversión latencia en líneas celulares y cultivos 1°s de LTh.
BRD2 (sin PID) → inhibición Tat-independiente	OTX015 (estructura parecida a JQ1)		Revierte latencia en líneas celulares y LTh reservorio de pacientes en TAR.

Posible 2º mecanismo de HDACis e inhibidores de BET: liberación directa del P-TEFb del complejo 7SK RNP.

4. Agonistas de PKC (proteín quinasa C)

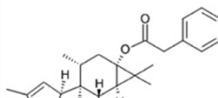
Activación PKC → activación de IκkB (quinasa específica de IκB) → fosforilación y ubiquitinización de IκB y degradación por proteasoma, liberando el NF-κB → unión NF-κB al promotor viral promoviendo la expresión del VIH.

PROSTRATINA (diterpeno tipo forbol-13-éster)



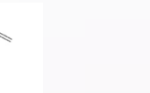
- *In vitro*: revierte latencia en líneas celulares y LTh reservorio.
- No EC.
- **Ventajas**:
 - No mitógeno ni inductor de tumores.
 - ↓ expresión CCR5 y CXCR4 → ↓ infección nuevos LTh.
- **Inconveniente**: ↑ expresión CD69 (marcador **activación**) y de varias CQ → **posible toxicidad**.

DPP (diterpeno tipo forbol-13-éster)



- *In vitro*: efectos parecidos a prostratina.
- **Ventaja**: no mitógeno.
- **Inconveniente**: ↑ expresión TNF-α (**posible toxicidad**).

GNIDIMACRINA (otros diterpenos)



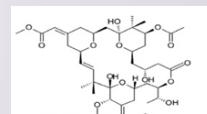
- ↓ **significativa reservorio viral ex vivo** (LTh reservorio) a concentraciones muy bajas (pM).

DITERPENOS DE PLANTAS DEL GÉNERO EUPHORBIA

INGENOL → reactiva VIH *in vitro* pero **induce activación LTh** (tóxico).

- **INGENOL B** (ingenol-3-hezanoato, derivado ingenol):
 - *In vitro*: revierte latencia en líneas celulares y LTh reservorio.
 - **Ventaja**: ↓ expresión CD4, CXCR4 y CCR5.
 - **Inconveniente**: ↑ expresión CD69.

BRIOSTATINA



- Natural (*Bugula neritina*), estudiado principalmente como antineoplásico y potenciador memoria en Alzheimer.
- *In vitro*: revierte latencia en varios modelos.
- **EC**:
 - 1) Doble ciego, 3 grupos de 4 pacientes (10, 20µg/m y placebo) → **no cambios en CA usRNA ni actividad PKC**, ↓ niveles plasmáticos.

Inconveniente: posible ↓ respuesta CD8 (citotóxica)

5. Otros tipos de LRAs

DISULFIRAM

- Tratamiento dependencia alcohólica (Antabus®).
- Posible mecanismo: ↓ **PTEEN** → + **vía de señalización PI3K/Akt** → activación IκkB → degradación IκB → unión NF-κB al promotor viral promoviendo la expresión del VIH.
- *In vitro*: **transcripción y producción virus en cultivos 1°s LTh y LTh reservorio**.
- **EC**:
 - 1) 16 pacientes, 500mg/día, 14 días → no cambios RNA plasmático ni reservorio
 - 2) 30 pacientes, 3 grupos con 500, 1000 o 2000mg/día, 3 días → ↑ **CA usRNA** en todos los grupos, y cierto ↑ de RNA plasmático en grupo de 2000 mg/día.

EN GENERAL...

1. Variabilidad en capacidad LRAs para inducir transcripción y producción viriones VIH
2. Ningún LRA ha logrado una importante reducción del reservorio *in vivo*.

FUTURO:

- a) **Combinaciones sinérgicas** LRAs (ej. HDACis/BETis + agonistas PKC)
- b) **Shock and kill + vacuna terapéutica**

5. Bibliografía

1. Sánchez-Merino V, B. Ferreira C, Yuste E. El virus de la inmunodeficiencia humana: Agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida. En: Gatell Artigas J.M., Clotet Sala B., Podzamczar Palter D. Miró Meda JM, Mallolas Masferrer J. Guía práctica del SIDA. Clínica, diagnóstico y tratamiento. 12ª Edición. Barcelona: ed. Antares; 2013. p. 1-17.
2. Alcamí J, Bermejo M, Colras MT, García-Pérez J, González N, Mothe B, et al. Inmunopatología del sida. Avances en vacunas. En: Gatell Artigas J.M., Clotet Sala B., Podzamczar Palter D. Miró Meda JM, Mallolas Masferrer J. Guía práctica del SIDA. Clínica, diagnóstico y tratamiento. 12ª Edición. Barcelona: ed. Antares; 2013. p. 21-46.
3. Siciliano RF. Targeting reservoirs to clear and cure. Nature Med. 2014; 20 (5): 480-481.
4. Datta PK, Kaminski R, Hu W, Pirone V, Sullivan NT, Nonnenmacher MR, et al. HIV-1 Latency and Eradication: Past, Present and Future [Internet]. PubMed Central (PMC). 2017 [citado 1 de abril de 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5157028/>
5. Xing S, Siciliano RF. Targeting HIV latency: pharmacologic strategies toward eradication [Internet]. PubMed Central (PMC). 2014 [citado 13 de abril de 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3672351/>
6. Delagrèverie HM, Delagrèverie C, Lewin SR, Deeks SG, Li JZ. Ongoing Clinical Trials of Human Immunodeficiency Virus Latency-Reversing and Immunomodulatory Agents [Internet]. PubMed Central (PMC). 2016 [citado 11 de mayo de 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5066458/>